Aus der Universitäts-Hautklinik Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. Dr. J. Kimmig)

Experimentelle Untersuchungen zur Bestimmung des Zinkgehaltes im menschlichen Sperma

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Vorgelegt von
Rainer Beltermann
aus Berlin

Hamburg 1961

Aus der Universitäts-Hautklinik Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. Dr. J. Kimmig)

Experimentelle Untersuchungen zur Bestimmung des Zinkgehaltes im menschlichen Sperma

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Vorgelegt von
Rainer Beltermann
aus Berlin

Hamburg 1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg
am: 24. 2. 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Dekan: Professor Dr. R. Prévôt

Referent: Priv. Doz. Dr. Schirren

Korreferent: Prof. Dr. Dr. Kimmig

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A.	Einleitung und Literaturübersicht	1
B.	Eigene Untersuchungen	21
	Methodik	21
	1. Morphologische Beurteilung	21
	a) Makroskopische Untersuchung	21
	b) Mikroskopische Untersuchung	21
	2. Fruktosebestimmung	22
	3. Zinkbestimmung und Methodik	22
	4. Eichkurve	32
	5. Fehlerquellen	35
	6. Berechnung der mittleren quadratischen Abweichung	36
C.	Ergebnisse	
	Beschreibung der Ergebnisse und tabellarische Übersichten	49
	a) Zinkbestimmung bei menschlichen Ejakulaten	51
	b) Doppelbestimmungen	68
	c) Zinkbestimmung im Bullensperma	70
D.	Diskussion der Ergebnisse	71
E.	Zusammenfassung	73
F.	Literaturverzeichnis	74
	Lebenslauf	

A. Einleitung.

Zink kommt in allen lebenden Organismen vor und gehört neben Eisen zu den wichtigsten unentbehrlichen biologischen Spurenelementen.

Seitdem Raulin im Jahre 1869 auf die Bedeutung von Zink für das Wachstum von Aspergillus niger hingewiesen hat, begann man die wesentliche Rolle, die Zink im Stoffwechsel von Pflanze und Tier spielt , zu würdigen. Eine intensive Erforschung des Zinkgehaltes von biologischen Materialien in quantitativer Hinsicht mußte aber zur damaligen Zeit an der Unzulänglichkeit der Untersuchungsmethodik scheitern.

1877 wiesen Lechartier und Bellamy Zink in Pflanzen und im tierischen Organismus nach ; Raoult und Breton machten auf die Anwesenheit von Zink in menschlicher Leber aufmerksam. In den dann folgenden Jahrzehnten schenkte man der biologischen Bedeutung des Zinks ein nur geringes Interesse. Erst 1926 fasste Lutz die bis dahin erzielten Ergebnisse zusammen und wies Zink in allen Organen der Ratte, der Katze und des Menschen nach. Jetzt, nachdem man fehlerarme Methoden zur Bestimmung von Spurenelementen kennengelernt hatte, rückte die Bedeutung von Zink für den Stoffwechsel immer mehr in den Brennpunkt wissenschaftlicher Erforschung.

Über die biologischen Wirkungen des Eisens und des Kupfers liegen zahlreiche Beobachtungen vor, über die spezeillen Aufgaben des Zinks im Zellstoffwechsel aber hat man auch heute noch nur ungenügende Kenntnisse, obwohl in den letzten Jahren eine grosse Anzahl von neuen Befunden über zinkhaltige organische Stoffe und über bemerkenswerte Zinkanreicherungen in bestimmten Zellgeweben hinzugekommen sind.

Das Problem der biologischen Rolle des Zinks in der physiologischen Chemie ist im Vergleich zum Eisen bisher auffallend vernachlässigt worden und das, obwohl bei höheren Tieren und beim Menschen die meisten Gewebe mehr Zink als Eisen enthalten. Zwar ist der Gesamteisengehalt des Tierkörpers etwas höher als der Zinkgehalt, über die Hälfte des Eisens befindet sich jedoch in den roten Blutkörperchen, also ausserhalb der eigentlichen Organe. Aus dem relativ hohen Zinkgehalt der Organe (meist 30 - 50 Y Zn / g Frischgewicht), muss man auf sehr wesentliche Funktionen des Zinks im Zellstoffwechsel schliessen. Nach W e i t z e l (1956) sind zum Beispiel die Konzentrationen an Kupfer und Cobalt um ein bis zwei Zehnerpotenzen geringer als die Konzentrationen an Zink.

Schwermetalle treten in lebenden Geweben nicht als freie Ionen auf, sondern wohl immer in Form organischer Kom-

plexverbindungen. Durch diese Verknüpfung von Metallen mit organischen Valenzen werden einerseits unerwünschte Ionenwirkungen abgepuffert, andererseits erwünschte Eigenschaften des Metalls verstärkt.

Zinkverbindungen können nur mit komplizierten chemischen Methoden untersucht und analysiert werden. Aus der chemischen Koordinationslehre sind zahlreiche zinkbindende Atomgruppierungen bekannt, von welcher zinkbindenden Konfiguration aber die lebende Zelle Gebrauch macht, ist nur unvollständig zu übersehen.

Als zinkbindende Substanzen eignen sich α - Aminosäuren, da sie die verschiedensten funktionellen Gruppen aufweisen und Rückschlüsse auf die Zinkaffinität von Peptiden und Proteiden erlauben. Seit E d s a l l (1954) und N o z a k i (1957) ist die hohe Affinität des Imidazol-Ringes zu Schwermetallen bekannt. Im Hinblick auf die im physiologischen Bereich auftretenden Bindungsmöglichkeiten zwischen Zink und Imidazol wurden zahlreiche Zn-Imidazol-Verbindungen analysenrein dargestellt. Der Imidazolring ist Bestandteil der Purinkörper, die ein hohes Bindungsvermögen für Schwermetalle haben. Weiter sind Sulfhydryl-Gruppen (A l b e r t 1952, P e r k i n s 1953) mögliche Bindungsstellen für Zinkionen an Eiweisskörper (G u r d 1956). 1957 berichtete W e i t z e l über Zn - Histidin - Komplexe.

Enzyme, die durch Anwesenheit zweiwertiger Schwermetalle aktiviert werden, sind keine Seltenheit, dagegen sind nur wenige Fermente bekannt, welche mit Sicherheit Zinkverbindungen sind und bei Zinkentzug ihre Wirkung verlieren. Bisher sind sieben zinkhaltige Fermente charakterisiert worden. Es sind die Carboanhydrase (K e i l i n 194o), die Alkoholdehydrogenase (V a l l e e und H o c h 1955, V a l l e e und H o c h 1957), die Glutaminsäuredehydrogenase (V a l l e e , A d e l s t e i n und O l s o n 1955), die Milchsäuredehydrogenase (V a l l e e und W a c k e r 1956), die Zymohexase (Aldolase) der Hefe, die Carboxypeptidase (V a l l e e und N e u r a t h 1955) und die alkalische Phosphatase (M a t h i e s 1958).

Möglicherweise bestehen auch Beziehungen zu anderen Fermenten. Es sei hier auch auf das Vorkommen von Zink im kristallischen Insulin hingewiesen, für dessen Wirksamkeit das Metall aber nicht wesentlich ist. (C u n n i n g h a m 1955). Das am längsten bekannte zinkhaltige Ferment ist die Carboanhydrase, deren Aktivität direkt vom Zinkgehalt abhängt.

1932 wurde von M e l d r u m und R o u g h t o n die Carboanhydrase in den Erythrocyten entdeckt. Hochgereinigte Präparate enthalten 0,2 - 0,3 % Zink. Die Abspaltung des Metalls führt zu irreversibler Inaktivierung,

sodass man annehmen kann, dass das Metall ein wesentlicher Bestandteil des Fermentmoleküls ist. Die Funktion der Carboanhydrase besteht darin, die Hydratisierung und Dehydratisierung des im Blut anfallenden Kohlenoxyds zu beschleunigen (B r i n k m a n 1932) . Das Kohlendioxyd wird bekanntlich als Bicarbonation gebunden, also muss der Aufnahme von CO_2 ins Blut ihre Hydratisierung zu H_2CO_3 folgen. Diese Reaktion beansprucht mehr Zeit als für die CO_2-Bindung beim Durchgang des Blutes durch die Capillaren zur Verfügung steht. Dadurch, dass die Carboanhydrase die Reaktion katalysiert, wird mit den biologischen Erfordernissen Schritt gehalten. Die höchsten Konzentrationen von Carboanhydrase in Säugetiergeweben werden in den Erythrozyten, in der Magenschleimhaut, im Pankreas, der Parotis, der Linse, der Retina und der Nierenrinde gefunden. Die dorsolaterale Portion der Prostata der Ratte enthält den gleichen Carboanhydraseanteil wie die Erythrozyten. In den meisten anderen Organen gibt es praktisch keine Carboanhydrase. In der Magenschleimhaut soll die Carboanhydrase an der Bildung von HCl beteiligt sein. Ebenfalls ist die Beteiligung des Enzyms an der Säureausscheidung im Urin erwiesen. In den Tubuluszellen werden H - Ionen zum Austausch gegen Natrium zur Verfügung gestellt, das rückresorbiert werden muss. Die H - Ionen entstehen durch die von der Carboanhydrase katalysierte Reaktion $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$. Im Tubulus dagegen wird die aus

$NaHCO_3$ entstehende H_2CO_3 durch das gleiche Ferment zu einem grossen Teil in $H_2O + CO_2$ zerlegt. So wird Natrium zurückgewonnen, ohne dass der Austauschpartner H^+ den Harn stärker ansäuert. Durch spezifische Hemmstoffe der Carboanhydrase kann man sogar die Säureausscheidung im Urin weitgehend unterdrücken und im Blut eine Acidose erzeugen.

Zur Erläuterung der Funktion der anderen erwähnten zinkhaltigen Fermente sei auf die angegebenen Literaturstellen hingewiesen.

In den letzten Jahrzehnten ist der Zinkgehalt von vielen verschiedenen Geweben untersucht worden. L u t z fasste 1926 alle bis dahin erzielten Ergebnisse zusammen und stellte fest, dass durch die Anwendung von Methoden, die in quantitativer Hinsicht ungenügend waren, uneinheitliche Messergebnisse erzielt wurden. Ein Vergleich der erzielten Resultate wird zusätzlich durch die Tatsache erschwert, dass die von den Untersuchern gewählten Einheiten stark variieren. In keinem Beispiel wurden die Organe von Blut befreit oder wurden Korrektionen gemacht, um die Fehlerquellen auszuschalten . (V a l l e e 1949)

In den meisten menschlichen und tierischen Organen findet man Zink in einer Menge von 10 - 200 γ /g Frischge-

wicht (V a l l e e 1949, K o g a 1935, L e i - h e r 1941). In zinkarmen Organen wie Gehirn, Lunge, Milz, Pankreas, Ovar und Uterus wurde ein Zinkgehalt bis etwa 40 Y /g Frischgewicht nachgewiesen; Niere, Leber und quergestreifte Muskulatur enthalten doppelt so viel.

In einer ausführlichen Arbeit wurde von W i d d o w - s o n , M c C a nce und S p r a y 1951 die Zusammensetzung des menschlichen Körpers beschrieben. Danach ergibt sich der totale Zinkgehalt eines Körpers von 70 kg mit rund 2 Gramm. Im Vergleich dazu beträgt der Gesamteisengehalt 4 - 6 Gramm, der Gesamtkupfergehalt 81 - 230 mg. 1927 berichteten D r i n k e r und F e h m e l über den Zinkgehalt von normalem menschlichen Urin und Faeces. Die absoluten Werte erscheinen durch die Ungenauigkeit der Methode als fragwürdig, aber sie sagen doch aus, dass der Mensch in 24 Stunden etwa 1 mg Zink im Urin und etwa 10 mg Zink in den Faeces ausscheidet. Die Zinkausscheidung stieg an, wenn zinkreiche Nahrungsmittel, wie zum Beispiel Austern, gegessen werden. Offensichtlich passiert Zink den Intestinaltrakt, ohne wesentlich resorbiert zu werden. 1942 bestätigten M c C a nce und W i d d o w s o n diese Ergebnisse. Ihren Daten zufolge beträgt die tägliche menschliche Aufnahmerate 10 - 15 mg Zink pro Tag, das meiste wird in den Faeces wieder ausgeschieden. Der Urinanteil scheint unabhän-

gig von der Aufnahme zu sein. Verbindliche Angaben über das Minimum des täglichen menschlichen Bedarfs an Zink sind nicht zu erhalten.

Die Gewebe des Auges enthalten grosse Quantitäten von Zink (L e i n e r 1941 und T a u b e r 1942). Der Hauptanteil des Zinks findet sich im Tapetum lucidum. Bei der Katze wurden als Werte für isoliertes Tapetum lucidum 4035 bis 9681 γ Zink pro Gramm Trockengewicht gefunden (W e i t z e l 1954) . Dieser Zinkgehalt wird einem Zink - Cystein - Komplex zugeschrieben, dieser wiederum soll eine Bedeutung bei photochemischen Umsetzungen im Auge haben.

Über den Zinkgehalt des Blutes und seiner Fraktionen liegen zahlreiche nicht immer übereinstimmende Angaben vor. Die folgenden Werte sind durch die Diphenylcarbazontechnik bestimmt worden (V i k b l a d h 1950 u.1951, W o l f f 1950 u. 1956, V a l l e e 1948).

Tab. 1 : Übersicht der von VIKBLADH, WOLFF und VALLEE gefundenen Zinkwerte für Vollblut, Erythrocyten, Leukocyten und Serum.

Vollblut	Erythrocyten	Leukocyten	Serum
1 ml	1 ml geballt	pro 1 Mill.Zellen	1 ml
8,8 ± 2 γ	14,4 ± 2,7 γ	3,7 ± 1,3 x 10^{-2} γ	1,2±0,19γ

Das Serum enthält etwa 12 % , die Leukocyten enthalten 3 % und die Erythrocyten enthalten etwa 85 % des Gesamtzinkgehaltes des Blutes.

Die Funktion der Serumproteide ist nicht bekannt. Zink soll in wenigstens zwei Fraktionen vorkommen, einmal in fest- und einmal in lose gebundener Form. Sowohl die Erythrocyten als auch die Leukocyten sind zinkreich, und zwar enthalten die Leukocyten 25 mal mehr Zink pro Zelle als die Erythrocyten (V a l l e e und G i b s o n 1948) . Die Frage nach den im Blut vorhandenen Zinkverbindungen lässt sich zur Zeit nicht sicher beantworten. Im Serum sind als Zinkproteide Albumine und Globuline mit Sicherheit vorhanden. Den Zinkgehalt der Erythrozyten führt man im allgemeinen auf das Ferment Carboanhydrase zurück. 1954 wurde von V a l e e , H o c h und H u g h e s aus den Leukocyten ein nicht näher identifiziertes Zinkproteid isoliert. Die Rolle des Zinks in den Leukocyten ist unbekannt, man kann sich über seine mögliche Funktion noch kein Bild machen. Im übrigen schliessen die Messergebnisse mögliche Zinkdifferenzen bei verschiedenen Leukocytenklassen nicht aus.

Interessant und erwähnenswert ist weiterhin der Zinkgehalt des Pankreas, über den es ebenfalls bisher nicht vielmehr als Hypothesen und Spekulationen gibt (M a s k e 1956).

Die Rolle des Zinks für die Wirkung von Insulin und Glukagon ist nicht geklärt (S c h w a i b o l d , B l e y e r und N a g e r 1938, S c h w a i b o l d 1939, M a s k e 1956).

Auffallend zinkreich ist die Prostata des Kaninchens, des Menschen und der dorsolaterale Teil der Rattenprostata, bei dem der Zinkgehalt 10 mal grösser ist als in irgendeinem anderen bisher analysierten Gewebe.

1951 fand M a w s o n 15 - 30 Y Zink pro Gramm Frischgewicht im Nebenhoden und in den Samendrüsen. Die dorsolateralen Teile der Prostata bei 11 Ratten enthielten 180,0 $\pm$ 45,5 Y Zink / g Frischgewicht im Vergleich zu den ventralen Teilen der Rattenprostata bei 9 Tieren, die nur 13,7 $\pm$ 3,2 Y Zink / g Frischgewicht enthielten.

Auf einer Trockengewichtsbasis fand M a w s o n 1952 891 Y Zink / g Trockengewicht in der dorsolateralen Rattenprostata ; die Kaninchenprostata enthält 1296 Y Zink / g Trockengewicht und die normale menschliche Prostata 859 Y Zink pro Gramm Trockengewicht.

Experimente mit radioaktivem Zn_{65} ergaben eine selektive Aufnahme dieses Isotops in der dorsolateralen Rattenprostata. Die Entfernung der Prostata hatte keinen Einfluss auf die Fertilität (G u n n , G o u l d

und and. 1955, G u n n und G o u l d 1956). Injizierte man Hunden mit Prostatafisteln Zn_{65}, so erschien es sehr bald im Sekret (P r o u t 1957).

Die Aktivität der sauren und der alkalischen Phosphatasen zeigten keine Beziehungen zum Zinkgehalt (F i s c h e r 1955 und H o a r e 1956). Die Aktivität der Carboanhydrase nimmt gleichmässig mit steigendem Zinkgehalt zu, eine befriedigende Korrelation zwischen Enzymaktivität und Zinkgehalt konnte nicht gefunden werden (M a w s o n 1952).

Die ventrale Portion der Rattenprostata enthält verhältnismässig wenig Zink. Es scheint noch nicht allgemein bekannt zu sein, dass die ventrale und die dorsale Prostata aus sehr verschiedenen Geweben bestehen, die sich nicht nur makroskopisch und histologisch, sondern sich auch hinsichtlich ihres Gehaltes an Citronensäure, Fruktose und an saurer und alkalischer Phosphataseaktivität unterscheiden.

Die Quelle des Zinks, das von B e r t r a n d und V l a d e s c o 1921 im menschlichen Spermaplasma und von T. M a n n 1946 in Spermatozoen und im Seminalplasma vom Widder entdeckt wurde, ist nicht bekannt. Die Werte, die B e r t r a n d und V l a -

d e s c o für Zink bei drei verschiedenen menschlichen Ejakulaten erhielten, waren 53 Y, 152 Y und 220 Y pro ml oder 572 Y, 1152 Y und 2020 Y Zink pro Gramm Trockengewicht. Die Ergebnisse von B e r t r a n d und V l a d e s c o wurden von M a w s o n 1953 nachgeprüft und bestätigt.

V a s t e r l i n g und V o l k m a n n machten 1960 Zinkbestimmungen in 108 menschlichen Ejakulaten. Sie bestimmten den Zinkgehalt pro ml, den Fruktoseverbrauch und den Citronensäuregehalt pro ml Ejakulat. Der durchschnittliche Zinkgehalt betrug 489 Y /ml Ejakulat. Minimal- und Maximalwerte lagen bei 220 Y Zink/ml und 768 Y / ml. Der Zinkgehalt der Ejakulate zeigte keine festen Beziehungen zur Spermienzahl, zur Spermatozoenmotilität oder zum Prozentsatz der pathologischen Spermatozoenformen. Bei Aspermien und bei Oligospermien wurden gleichgrosse Zinkmengen gefunden wie in normalen Spermaproben.

V a s t e r l i n g zentrifugierte bei 24 Ejakulaten die in einem Kubikzentimeter enthaltenen Spermien ab, wusch sie und untersuchte sie auf ihren Zinkgehalt. Er fand einen Durchschnitt von 74 Y mit den Grenzwerten von 36 Y und 122 Y.

D y r e n d a h l untersuchte 1954 den Zinkgehalt des Spermas vom Hengst und fand einen mittleren Gehalt von 586 Y Zink pro ml Ejakulat.

Bei 3 menschlichen Ejakulaten fand D y r e n d a h l 572 Y, 1552 Y und 2020 Y Zink/ml.
Derselbe Autor untersuchte weiterhin 70 Spermaproben von A I - Bullen der SRB - Rasse und fand einen mittleren Zinkgehalt im frischen Ejakulat von 28,41 ± 0,99 Y Zink pro ml. Die Durchschnittszahlen für die verschiedenen Bullen lagen zwischen 25,62 und 36,52 Y Zink. D y r e n d a h l konnte keinen Zusammenhang zwischen dem Zinkgehalt und anderen Eigenschaften des Spermas wie Volumen, Spermadichte, Motilität und Trokkensubstanzgehalt feststellen. Auch zwischen dem Zinkgehalt des Spermas und dem Trächtigkeitsresultat fand sich kein Zusammenhang.

T.M a n n untersuchte Widderejakulate und fand 9,8 Y Zink pro ml.

Auf Grund der gefundenen Werte zusammen mit den Analysen männlicher Genitalorgane verschiedener Species nehmen die Untersucher an, dass Zink eine Rolle bei der Fortpflanzung und bei der Regulierung der inneren Sekretion spielt.

Um die hohe Konzentration von Zink im menschlichen Samen zu würdigen, ist es notwendig, sie mit den aus anderen Organen gefundenen Werten zu vergleichen. Die folgende Tabelle enthält Werte für den Zinkgehalt menschlichen Samens und der Prostata, für eine Reihe

Rattengewebe aus der Arbeit von M a w s o n 1953 zusammen mit einigen Resultaten von E g g l e t o n (1940). Es ist zu beachten, dass die Tabelle auf einer Trockengewichtsbasis zusammengestellt worden ist.

Tab. 2 : Übersicht der von MAWSON und EGGLETON gefundenen Zinkwerte (γ Zink / g Trockengewicht) bei einigen Organen des Menschen und der Ratte

Gewebe	Mittlerer Zn-Gehalt (γ Zn / g Trockengewicht)	
	Mensch	Ratte
Cerebrum	43	70
Lunge	67	87
Milz	72	86
Herz	100	83
Pankreas	135	101
Niere	186	106
Muskel	228	50
Leber	245	107
Testes	62	212
Nebenhoden		216
Prostata (dorsolat.)	859	891
Samen	1998	-

M a w s o n und F i s c h e r sammelten die erste, mittlere und die letzte Portion jedes Ejakulates ge-

getrennt und bestimmten den Gehalt an Zink der einzelnen Fraktionen. Die Anzahl der Spermien der einzelnen Fraktionen differierte ausgesprochen voneinander, während der Gehalt an Trockensubstanz in den 3 Fraktionen ungefähr derselbe war. Die Spermatozoen der ersten Fraktion, welche über 80 % der Gesamtzahl enthielt, waren lebhaft beweglich, während jene der zweiten Portion mässig beweglich oder unbeweglich waren. In der dritten Portion waren alle unbeweglich. Der Zinkgehalt des Ejakulates nahm von der ersten zur dritten Portion ab. Die saure Phosphatase, von der man annehmen kann, dass sie aus der Prostata stammt, kam hauptsächlich in der ersten Portion des Ejakulates vor. L u n d q u i s t und P r y d e (1950) bestimmten die Fruktose in den verschiedenen Fraktionen und fanden die meiste Fruktose in der letzten Portion. Sie nehmen an, dass die Fruktose aus den Samenblasen stammt. Nach M a w s o n und F i s c h e r (1953) ist die erste Portion des Ejakulates eine Mischung von Sekret der Epididymis und der Prostata, die zweite Portion eine Mischung von Prostatasekret und Sekret der Glandulae vesiculosae. Die dritte Fraktion scheint hauptsächlich aus den Glandulae vesiculosae zu stammen.

Menschlicher Samen enthält zähes muköses Material, welches von den Spermatozoen schwierig zu trennen ist. man kann diese Verunreinigungen vermeiden, wenn man

Spermatozoen nur aus der ersten Fraktion verwendet. Die gereinigten Spermatozoen enthalten ungefähr den gleichen Betrag an Zink wie die ungereinigten. Obgleich die Spermatozoen einen hohen Zinkgehalt haben, ist ihr relatives Volumen so klein, dass es nicht möglich war, einen grossen Unterschied zwischen dem Zinkgehalt des Gesamtejakulates und dem des Plasmas aufzuzeigen.

Wie schon erwähnt, kommt bei der Ratte die höchste Konzentration an Zink in den dorsolateralen Teilen der Prostata vor, nämlich 2900 γ Zink/g Trockengewicht. Der Gesamtgehalt an Zink in den Sekreten der Geschlechtsdrüsen der Ratte ist sogar höher als der in den Drüsen selbst, ein Teil des Zinks liegt in dialysierbarer Form vor. Die Funktion des Prostatasekretes, abgesehen davon, dass es das flüssige Medium für die Spermatozoen darstellt, ist unbekannt, aber es scheint, dass die Prostata einen grossen Teil des Zinks an die Flüssigkeit abgibt, in der die Spermatozoen selbst reich an Zink suspendiert sind. Es sei an dieser Stelle daran erinnert, dass M a n n bereits 1945 gezeigt hat, dass das Seminalplasma nicht nur ein träges Vehikel ist, sondern dass es seinen eigenen aktiven Stoffwechsel hat und einen stimulierenden Effekt auf die Beweglichkeit der Spermien ausübt. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass Zink mit einigen wichtigen Stoffwechselprozessen des Plasmamediums in Zusammenhang steht, die für die Spermienmotilität von Bedeutung sind.

Erwähnenswert ist weiterhin in diesem Zusammenhang die Annahme von M a w s o n (1953) , dass Zink in irgendeiner Weise notwendig ist für die Synthese von Fermenten, bei denen Zink selbst nicht in die Molekularstruktur eingebaut ist. K a r (1956) schliesst daraus, dass die Zinkreserve der dorsolateralen Prostata eine Rolle spielen könnte bei der Synthese von Fermenten, die hauptsächlich in Verbindung stehen mit der Bildung von Citronensäure, die ja ein Hauptprodukt dieser Drüse darstellt.

Auf welchen Zinkverbindungen der Zinkreichtum der erwähnten Organe beruht, ist ungeklärt. Die einzige biochemische Rolle, die dem Zink bisher zuzuschreiben ist, bezieht sich auf sein Vorkommen als Teil der Carboanhydrase. Diese kann aber für die hohe Zinkkonzentration nur in einem sehr geringen Maße verantwortlich sein, da sie nach K e i l i n und M a n n (1940) nur etwa 0,3 % Zink enthält.

Nach M a w s o n (1953) ist im Spermaplasma nur 0,05 % des vorhandenen Zinks auf dieses Zinkenzym zu beziehen.

Wie wirkt Zinkmangel im Tierversuch ?

Bei Ratten, denen man eine Diät zugeführt hatte, die weniger als 0,5 Y Zink/g enthielt, traten Symptome von Zinkmangel nach 5 bis 8 Wochen auf. Die augen-

fälligsten Symptome waren Einschränkung des Wachstums, Haarausfall, Grauwerden der Haare und Hautläsionen. Die Testes waren degeneriert, die Nebenhoden von zinkmangelernährten Tieren enthielten wenige oder gar keine Spermatozoen. Die Organe waren kleiner als normal. Tiere, die die gleiche Diät mit einem täglichen Zusatz von 100 Y Zink erhielten, hatten normale Geschlechtsorgane und eine normale Spermaproduktion (E l c o a t e u.a. 1955). Gab man zinkmangelernährten Ratten Testosteron, so nahmen sie etwas an Körpergewicht zu. Das Gewicht der Hoden nahm ab, die Degeneration der Tubuli hielt an. Das Gewicht der Nebenhoden nahm zu, erreichte aber nicht den Normalstand. Die Gewichte des dorsolateralen und ventralen Prostatalappens und der Samenbläschen wurden grösser als normal. (G u n n , 1955).

Gab man zinkmangelernährten Ratten Gonadotropine , erreichte man ein enormes Wachstum von Prostata und Samenbläschen, ein weniger ausgesprochenes der Hoden und Nebenhoden. Da der Sexualapparat von zinkmangelernährten Ratten auf Gonadotropinzufuhr antwortet, glaubt E l c o a t e , dass das mangelnde Wachstum der Fortpflanzungsorgane auf eine verminderte Gonadotropinzufuhr zurückgeführt werden kann. Die positive Wirkung von Testosteron- und Gonadotropingaben bei Zinkmangeltieren, weist darauf hin, dass die Hormone bei Zinkmangel vermindert produziert werden (V a l l e e , 1959). Eine bemerkenswerte Zunahme

der Wirksamkeit von gonadotropen Hypophysenextrakten nach Hinzufügung von Zink, beurteilt an der Oestrogenproduktion und an Veränderungen im Uterus, ist von E v a n s 1950 beobachtet worden. Ähnliche Effekte von Kupfer und Zink auf Follikel stimulierendes Hormon (FSH) und luteinisierendes Hormon (LH) bei der Ratte sind seit F e v o l d 1930 bekannt.

K a r (1956) und Gun n (1956) studierten den Einfluss von Sexualhormonen auf die $Zink_{65}$-Aufnahme durch den dorsolateralen Prostatalappen der Ratte. Ihre Ergebnisse zeigen, bis zu welchem Ausmaß die Aufnahme von Zn_{65} durch den dorsolateralen Prostatalappen durch Sexualhormone beeinflusst wird. Zunächst war die Konzentration an Fruktose das einzige Mass für die Funktion der dorsolateralen Prostata. Nachdem G u n n , G o u l d und andere gezeigt haben, dass es eine selektive Aufnahme von Zn_{65} durch den dorsolateralen Prostatakern gibt, und dass ein grosser Teil des radioaktiven Zinks im Sekret wiederzufinden ist, scheint es, dass das Ausmaß der Zn_{65}-Aufnahme ein Mass für den Funktionszustand des Organes ist.

G u n n beschreibt, dass die Fähigkeit der dorsolateralen Prostata, Zink zu speichern, durch Kastration eingeschränkt wird, und dass diese Verminderung der Aufnahmefähigkeit durch angemessene Androgendosen aufgehoben wurde. Androgene wie Gonadotropine waren bei

der intakten reifen Ratte ohne Einfluss auf die Zn_{65} - Aufnahme, ja Gaben von Androgenen an die intakte reife Ratte resultierten in einer Verminderung der Zinkaufnahme. Oestrogene verhinderten die Zinkaufnahme bei der reifen Ratte nur in einem ganz engen Bereich der Dosierung. Beim reifen Kastraten war Oestrogen ebenso wie Androgen in der Lage, die Zn_{65} - Aufnahme aufrechtzuerhalten.
Beim unreifen Kastraten waren Oestrogene aber nicht Androgene in der Lage, die Kapazität der dorsolateralen Prostata hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Zn_{65} zu konzentrieren, ansteigen zu lassen bis auf das Niveau, das man bei der gesunden, vollreifen Ratte findet.

B. Eigene Untersuchungen

I. Methodik

1.) Morphologische Beurteilung des Ejakulates.

Die Untersuchungen wurden an Ejakulaten durchgeführt, die durch Masturbation gewonnen waren. Kondomejakulate wurden nicht untersucht, da hier regelmässig eine "Nekrospermie" festgestellt wird, die auf toxische Einflüsse von Giftstoffen zurückgeführt wird.
Bei allen Ejakulaten erfolgte zunächst eine morphologische und biochemische Untersuchung, nach dem an der Universitäts-Hautklinik Hamburg-Eppendorf angewandten festen Schema.

a) Unsere makroskopischen Untersuchungen umfassten:

1. Bestimmung des pH-Wertes
2. Bestimmung der Konsistenz
3. Bestimmung der Farbe
4. Bestimmung des Volumens
5. Bestimmung des Geruches .

b) Unsere mikroskopischen Untersuchungen umfassten:

1. Beurteilung der Beweglichkeit der Spermatozoen.
2. Zahlenmässiger Anteil der beweglichen zu den unbeweglichen Spermatozoen.
3. Auszählung der Spermatozoen.

Die Untersuchungen wurden nach S c h i r r e n 1960 durchgeführt.

2.) Fruktose - Bestimmung .

Nach einer Methode von R o e , modifiziert nach D a v i s und Mc C u n e und S c h i r r e n , wurde Fruktose anhand einer colorimetrisch messbaren Farbreaktion mit Resorcin bestimmt.

3.) Zinkbestimmung und Methodik .

Die Bestimmung von Zink im menschlichen Ejakulat wurde nach der Methode von W o l f f (1954) durchgeführt. Dithizon ist ein violett-schwarzer Stoff, der sich in den meisten organischen Lösungsmitteln löst. In CCl_4 gelöstes Dithizon extraniert aus sauren Mineralösungen zahlreicher Schwermetalle, wobei sich das grüne Keto-Tautometer des Reagens mit 2-wertigen Metallionen nach folgender Reaktion farbbildend umsetzt :

$$M^{++} + 2\,D_z = MD_{z_2} + 2\,H^+$$

Dithizon formt mit folgenden Metallen Dithizonate : Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Pt, Au, Hg, Tl, Pb und Bi. Die Dithizonate können in zwei tautomeren Formen bestehen und zwar in der Keto- und Enolform.

Die Dithizonate sind wie Dithizon selbst unlöslich in neutralen oder sauren wässrigen Lösungen, aber sie sind löslich in organischen Lösungen, indem sie eine violette, rote oder orangene Farbe hervorrufen, ganz abhängig vom Metall.

Damit das Zink mit Dithizon eine Reaktion eingehen kann, muss es aus seinen organischen Bindungen gelöst werden. Als Aufarbeitungsverfahren benutzten wir die angegebene Säurefällung, da sie für flüssige Untersuchungsmaterialien die günstigste Methode ist. Die Zinkbindung wird bei diesem Verfahren durch 6 n HCl gelöst, der Eiweissanteil wird durch 20%ige Trichloressigsäure (TCE) gefällt.

Als Fehlerquellen der Säurefällung gibt W o l f f Verluste durch Metallabsorption an den Fällungsrückstand und Übertritte von Proteinresten oder Lipoiden in das abzentrifugierte Analysengut an, Verbindungen, die beim Ausschütteln des Zinks mit der Reagenzlösung Schaumbildung und störende Trübung verursachen. Die Metallabsorption wurde durch zweimaliges Nachwaschen des Fällungsrückstandes mit TCE , das Übertreten von Proteinbruchstücken durch 60-minütige Inkubation der sauren Analysenlösung im Wasserbad bei 90° C vermieden. Um Zink im Sperma spezifisch nachzuweisen, müssen die mannigfachen Reaktionsmöglichkeiten des Zinks bis auf die gewünschte eingeschränkt werden.

Es gelten für Zinkionen in Gegenwart anderer Metalle folgende Nachweisbedingungen :

Die Extrabilität des Metalls aus dem Analysengut ist

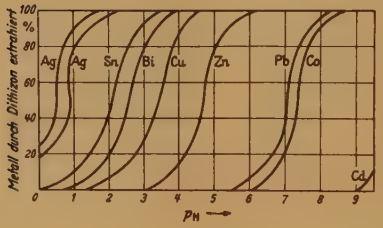
1.) vom pH der Lösung,

2.) von der Grösse des vorhandenen Dithizonüberschusses und

3.) von der Extraktionsdauer (Schüttelzeit) abhängig.

Ad 1) : Die Extrabilität des Metalls ist vom pH abhängig. Das optimale pH für die Zinkreaktion ergibt sich aus der Gleichgewichtskurve des Zinkdithizonats (siehe Abb. 1) .

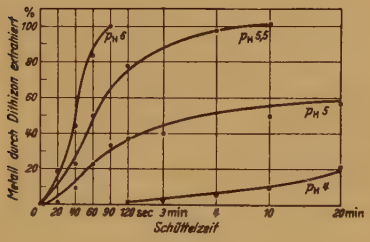
Abb. 1 : Gleichgewichtskurven verschiedener Metalldithizonate (nach WICHMANN ergänzt durch WOLFF)



Ad 2) : Die Extrabilität des Zinks ist abhängig vom Dithizonüberschuss. Dieser lässt sich empirisch gut bestimmen. Bei einem Konzentrationsverhältnis von Zn^{++} : D_z = 1 : 50 lässt sich das Zink des zu analysierenden Materials durch einmalige Extraktion von 2 - 3 Min. quantitativ erfassen.

Ad 3) : Die Extrabilität des Zinks ist abhängig von der Extraktionsdauer (Schüttelzeit) (s.Abb. 2)

Abb. 2 : Zinkausbeute und Extraktionszeit in Abhängigkeit vom pH (nach WOLFF)



Die bei den von uns gewählten Analysenbedingungen (pH 6, 50-facher Dithizonüberschuss, einmalige Extraktion) erforderliche Schüttelzeit ergibt sich aus den von W o l f f bei verschiedenen pH -Werten durchgeführten Extraktionsversuchen. Die Schütteldauer soll mindestens 3 Min. - bei 2 Touren /sec. - betragen. Bei gegebenem Dithizonüberschuss, bei gegebener Schütteldauer (mindestens 3 Min. = 2 Touren pro Sekunde) und in Gegenwart eines dritten Metalle ausschaltenden Tarngemisches ist die Ausbeute ab pH 6 quantitativ.

Bei Verschiebung des pH zum sauren Milieu lässt sich eine quantitative Zinkextraktion nur durch erhebliche Zunahme der Schütteldauer erzwingen (s.Abb. 2) .

Bei den beträchtlichen Störungsmöglichkeiten in Abhängigkeit vom pH und der Schüttelzeit wurde von uns die grösste Sorgfalt verwendet, exakte pH-Werte von 6-7 durch jedesmalige Messung mit dem pH-Meter "Phywe Göttingen" zu erhalten und eine Mindestschüttelzeit von 3 Minuten einzuhalten.

Weitere Fehlerquellen entstehen bei der Verschiebung der Reaktion in alkalisches Milieu. W o l f f gibt an, dass ab pH 7 in Mineralisaten biologischer Substanzen Verluste durch Bildung von Zinkphosphaten oder durch Zinkabsorption an Calciumniederschläge theoretisch möglich sind. Bei pH 7 beginnt Dithizon in die wässrige Phase überzutreten und dort mit Metallen Enolverbindungen einzugehen. Die Dithizonreaktion kann also für Zink spezifisch gemacht werden, indem man 1.) den pH-Wert der wässrigen Phase optimal einstellt, und indem man 2.) Salze zufügt, die mit möglicherweise interferierenden Metallen in der Lösung Komplexe formen.

Wie bereits erwähnt, ist in biologischen Analysenmateralien mit Störungen durch mannigfaltige Metalle zu rechnen. Hinzu tritt die Bildung der rotbraunen Oxydationsstufe des Dithizons unter dem Einfluss von Fe^{+++} - Ionen. Durch Gegenwart von Thiosulfat (Cu,Pb) und Cyanid (Co, Fe) werden interferierende Metalle in stabile Komplexverbindungen überführt und dadurch

einer Reaktion mit Dithizon entzogen. Unter diesen Bedingungen wird der Nachweis zinkspezifisch.

W o l f f hat sich besonders das Tarngemisch nach F i s c h e r bewährt, das auch wir bei unseren Untersuchungen benutzten. Das Extraktionsmilieu darf pH 6 nicht überschreiten, da sonst die Schutzwirkung des Thiosulfats gegenüber Pb-Reaktionen nachlässt.

Optische Messbarkeit.

Zink bildet ein purpurrotes Dithizonat, dessen Absorptionsmaximum bei 535 mμ liegt. Colorimetrische Bestimmungen von Metallen durch Dithizon können entweder durch die Monocolormethode oder durch die Mischfarbenmethode ausgeführt werden. Bei der Monocolormethode wird das überschüssige Dithizon entfernt, indem man es mit einer schwachen Base schüttelt. Nur die Farbe des Dithizonats wird bestimmt. Fehlerärmer ist die Mischfarbenmethode, die wir bei unseren Messungen anwandten. Bei der Mischfarbenmethode wird der Dithizonüberschuss nicht zerstört, sondern der Zinkgehalt aus den Absorptionseigenschaften der Farbkomponenten des mischfarbenen Dithizonextraktes (gebildetes Zinkdithizonat = rot , überschüssiges Dithizon = grün) bestimmt.

Bei unseren Messungen wurde der ZEISS'sche Photometer "Elko" III verwandt. Die Messung der Extinktion des mischfarbenen Dithizonextrakts wurde bei 535 mμ gegen

die grüne, als Leerwert behandelte Ausgangslösung vorgenommen. Durch die Messung der Analysenlösung gegen das Gemisch zweier Leerwertlösungen werden Fehler, wie Oxydationsgrad des Dithizons, Wasserfehler und Verunreinigungen der verwendeten Reagentien eliminiert.

Die Dithizonkonzentration der Ausgangslösung wurde von uns auf etwa E = 0,4 eingestellt. Die Messwerte der Extinktion bewegen sich so im optimalen Registrierbereich des Photometers.

Die Extinktion des Zinkdithizonats ist temperaturabhängig. Die Ablesungen wurden von uns nach dem von W o l f f angegebenen optimalen Temperatur von etwa 18° C vorgenommen.

M e t h o d e n .

Es werden folgende Reagentien benötigt :

1.) 6 n HCl
2.) 10 und 20%ige Trichloressigsäure
3.) Tartratlösung : 20% ige $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4\ H_2O$
4.) Indikatorlösung: 0,04 % Bromkresolgrün in 96%igem Alkohol
5.) NH_4OH p.a. wöchentlich frisch zu destillieren
6.) Pufferlösung : 270 g Na-acetat ad 1000 ml Aqua pur. + 30 ml Eisessig (pH 6)
7.) Tarngemisch (pH 6) :

15 Tropfen NH_4OH
15 ccm Ammoniumoxalat (5%ig)
15 ccm KCn (5%ig)
35 ccm HCl (1n)
85 ccm Na-acetat (5%ig)
120 ccm Na-thiosulfat (50%ig)
150 ccm Na-acetat (5%ig)

(Die Reihenfolge der Reagentien ist unbedingt einzuhalten)

8.) Dithizonlösung : 20 mg Dithizon in 100 ml CCl_4 lösen, mit CCl_4 bis auf E = 0,40 verdünnen.

Zinkbestimmung in Ejakulaten.

Das zum Ansetzen der Lösungen und zum Reinigen der Geräte gebrauchte Wasser wurde durch Passieren einer Kationenaustauschersäule unter Benutzung von Lewatit KSN BAYER LEVERKUSEN metallfrei gemacht (Aqua pur.).

I. Reinigung der Dithizonlösung .

Die Reinigung des Dithizons von seiner Oxydationsstufe erfolgt durch Auswaschen der Lösung mit dem doppelten Volumen ammoniakalischem Aqua pur. (pH 9 - 11).

Hierbei geht das reine Dithizon in die wässrige Phase über und verfärbt sich orangefarben. Aus der wässrigen Phase wird das Dithizon nach vorheriger Ansäuerung mit 6n HCl, wobei der orangene Farbton bei pH 3 - 5 in blaugrün umschlägt, wieder in das halbe Volumen reinen CCl_4 zurückgewaschen.

II. Reinigen der Puffer- und der Tartratlösung sowie des Tarngemisches.

Die für den jeweiligen Analysengang zu verwendende Menge an Lösungen wird vorausberechnet und mit dem gewaschenen Dithizon ausgeschüttelt. Verfärbte sich das Dithizon nach etwa 3 Minuten kräftigem Ausschütteins rötlich, so wurde ein zweites Mal nachgewaschen.

Wir verwandten zum Ausschütteln 1 Liter-Scheidetrichter.
Die Reinigung der verwandten Glasgeräte erfolgte nach 24-stündigem Einlegen in gesättigte Bichromatschwefelsäure, durch Spülen 1. mit Leitungswasser, 2. mit Aqua destill. und 3. mit Aqua pur.

Arbeitsweise.

1 ml Ejakulat wird mit Aqua pur. im Verhältnis 1 : 100 verdünnt. Es ist auf kräftiges Durchschütteln zu achten, um eine gleichmässige Verteilung des Untersuchungsmaterials zu gewährleisten.

1 ml des so verdünnten Untersuchungsmaterials wird mit 1 ml 6 n HCl und 2 ml 20 %iger TCE versetzt und dann 5 Minuten bei 90° C im Wasserbad erhitzt.

Anschliessend wird 20 Minuten lang bei 3500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, und die überstehende klare Flüssigkeit abgegossen. Der Bodensatz wird 2 mal mit 10 % iger TCE nachgewaschen, zentrifugiert und abgegossen.

Der gesammelte Ejakulatextrakt wird anschliessend 60 Minuten bei 90° C im Wasserbad inkubiert und dann auf 18° abgekühlt. Es ist im übrigen nicht zu vergessen, jeweils zwei Leerwerte mitlaufen zu lassen. Das Analysengut wird in einen 150 ml Schütteltrichter überführt. Jede Probe wird mit einem Tropfen Indikatorlösung (Gelbfärbung) und 2 ml Tartratlösung versetzt. Es

Es folgt eine Titration mit konzentrierter NH_4OH bis zur Blaufärbung. Es ist bei jedem Tropfen durchzuschütteln und genau auf die erste zarte Blaufärbung zu achten, da jeder weitere Tropfen Ammoniak die Reaktion zu weit ins alkalische Milieu verschiebt und damit ungünstigere Extraktionsbedingungen schafft.

Im Anschluss an die Titrierung fügt man 25 ml Puffer und 30 ml Tarngemisch hinzu und schüttelt das Ganze mit 10 ml Dithizonlösung mindestens 3 Minuten lang aus.

Wir gingen bei unseren Untersuchungen praktisch so vor, dass wir das Analysengut 4 Minuten im Schüttelapparat ausschüttelten, und es anschliessend 20 mal mit der Hand kräftig nachschüttelten. Der Dithizonextrakt wird abgetrennt und die Extinktion mit dem Photometer "Elko III" bei 20 mm Cuvettenstärke und mit dem Filter S 53 E sofort gegen den Leerwert gemessen. Es ist Wert darauf zu legen, dass die Ablesungen der Extinktionen nach höchstens 3 Minuten erfolgt, da nach längerem Zuwarten mit veränderten Werten zu rechnen ist. Als Blindwert dient uns das Gemisch zweier nach dem gleichen Analysengang ohne Verwendung von Ejakulat gewonnener Dithizonextrakte. Die Schichtdicke und das Extraktionsvolumen ergeben für die in Ejakulaten im allgemeinen vorliegenden Zinkkonzentrationen die günstigsten analytischen Bedingungen.

4.) Anlegung einer Eichkurve .

Zur Aufstellung einer Eichkurve wurden Zinkeinwaagen von 2,5 Y Zin, 5 Y Zink, 7,5 Y Zink, 10 Y Zink und 12,5 Y dem beschriebenen Arbeitsgang unterzogen.

- Eichkurve s. Seite 33 -

Die Extinktionswerte der Zinkdithizonate bei einer Schichtdicke von 20 mm und bei einer Zimmertemperatur von etwa 18° C unter Verwendung des Filters S 53 E sind aus der folgenden Tabelle zu ersehen. Die Extinktionen der verschiedenen Zinkdithizonate wurden mindestens 10 mal bestimmt. Die Tabelle 3 zeigt eine Aufstellung der gefundenen Extinktionswerte und ihrer Mittelwerte.

- Tabelle 3 siehe S. 34 -

Aus den von uns errechneten Mitteln der Extinktionswerte wurde eine Eichkurve gezeichnet. (Eichkurve siehe Seite 33) .

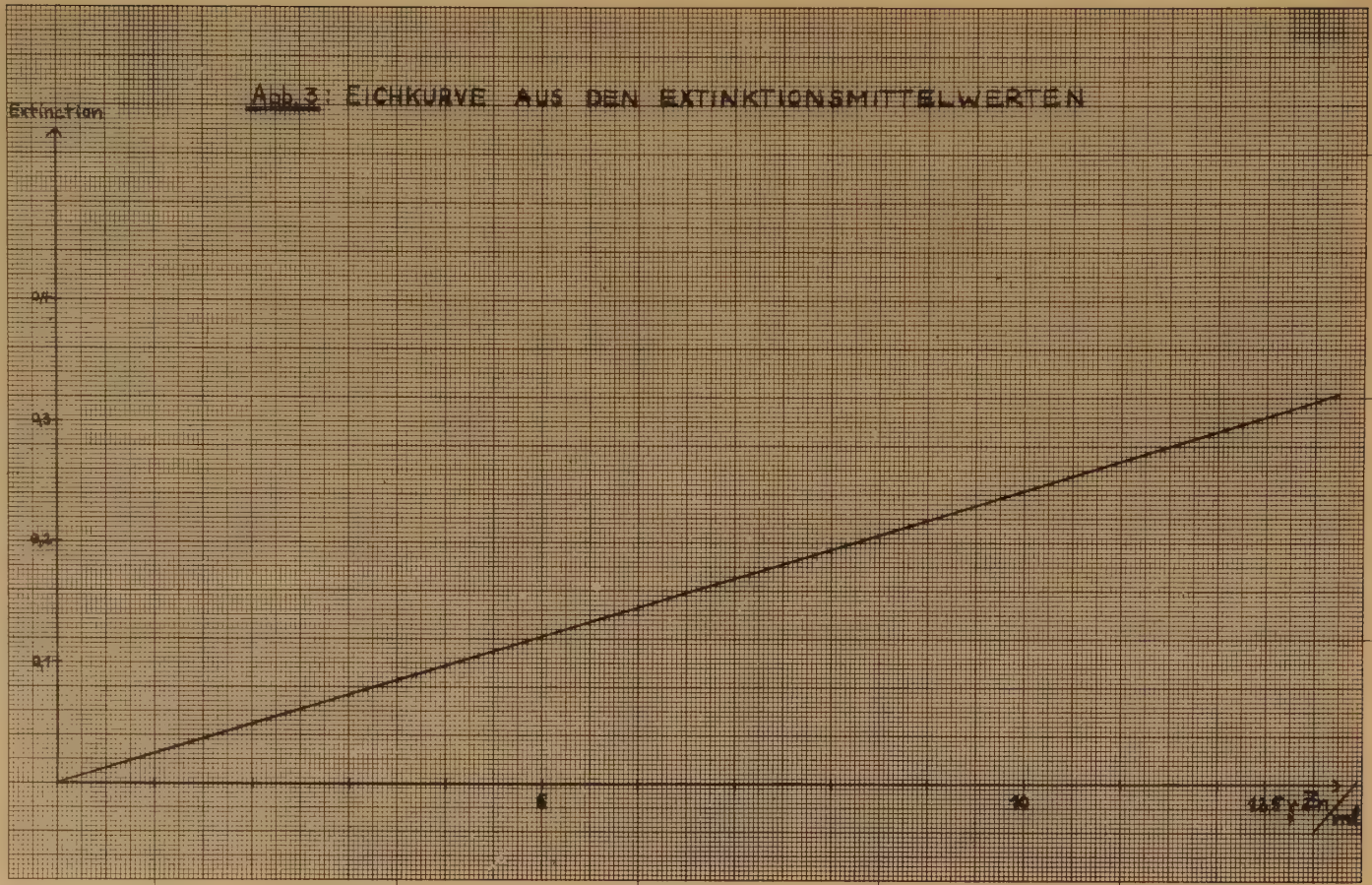


Abb. 3: EICHKURVE AUS DEN EXTINKTIONSMITTELWERTEN
Extinction
0,4
0,3
0,2
0,1
5
10
15 γ Zn²⁺/ml

Tab. 3 : Übersicht der Einzelmessungsergebnisse (Extinktionen) für die Eichkurve.

2,5 γ Zn	5 γ Zn	10 γ Zn	12,5 γ Zn
0,07	0,12	0,245	0,320
0,065	0,09	0,24	0,305
0,055	0,135	0,255	0,310
0,06	0,08	0,26	0,305
0,06	0,10	0,225	0,300
0,05	0,125	0,235	0,300
0,075	0,095	0,245	0,315
0,05	0,135	0,235	0,320
0,07	0,125	0,265	0,325
0,055	0,115	0,235	0,310
		0,245	
		0,26	
		0,23	
0,610	1,120	3,175	3,110 Summe
0,061	0,111	0,244	0,311 MW

Die Eichkurve aus den Mitteln E = 0,061, E = 0,111 , E = 0,245 und E = 0,311 ergibt eine gradlinige Funktion.

Berechnung :

Aus der Eichkurve lassen sich nun die Zinkwerte ablesen. Bei den Zinkbestimmungen in Ejakulaten mussten die abgelesenen Werte mit einer Konstanten von 100 multipliziert werden. Diese Konstante entsprach der Verdünnung der Ejakulate von 1 : 100 .

5.) Fehlerquellen .

Auf einen Teil der Fehlerquellen wurde von uns schon bei der Beschreibung der Methode eingegangen. Wir halten es nicht für unsere Aufgabe, über die Anwendbarkeit der Photometrie als Analysenmethode im Einzelnen zu diskutieren. Jedoch dürfen wir einige andere Fehlermöglichkeiten, die bei unserer Methode in Frage kommen können, nicht unerwähnt lassen.

Fehler in den Eichlösungen, z.B. durch Einwägen von feuchten Substanzen, Wägefehler, Verwendung nicht genügend reiner Substanzen usw.;auf die genügende Reinigung der Gefässe ist bereits hingewiesen worden.
Verdünnungsfehler beim Vorbereiten der Proben für die Analyse, also Pipettenfehler usw.

Systematische Unterschiede zwischen der Oberflächenspannung und Viskosität der Analysenflüssigkeit einerseits und den Eichflüssigkeiten andererseits.
Häufig sind der Spermaflüssigkeit sagokornartige Gebilde und schleimiges Material beigement, die oft längere Zeit zur Verflüssigung brauchen oder überhaupt nicht verflüssigen. Es ist deshalb wichtig, die Selbstverflüssigung des Ejakulates abzuwarten.

Es war von uns zunächst in Erwägung gezogen worden, die Spermaflüssigkeit vor dem Verdünnen mit Wasser zu enteiweißen. Wir entschieden uns aber für die von uns durchgeführte Methode, da das Enteiweißen die bekannten Nachteile hat, dass mit den Reagentien Verunreinigungen in das Analysenmaterial gebracht werden, und dass die zu bestimmenden Elemente sich durch Adsorption an die Eiweissbestandteile der Analyse entziehen.

6.) Berechnung der mittleren quadratischen Abweichung.

Bei Serienbestimmungen berechneten wir die mittlere quadratische Abweichung der Zinkwerte nach folgender Formel, die wir aus dem Handbuch von H o p p e - S e y l e r und T h i e r f e l d e r entnahmen :

Mittlere quadratische Abweichung

$$(MqA) = \sqrt{\frac{(x_1 - x)^2 + (x_2 - x)^2 + (x_n - x^2}{n - 1}}$$

Beispiel : Es soll die mittlere quadratische Abweichung der folgenden Serie von Zinkwerten berechnet werden :

Prot.Nr. 2303 :	1.	700	γ Zink / ml
	2.	615	"
	3.	678	"
	4.	650	"
	5.	730	"
Mittelwert:		674,6	γ Zink /ml

$$= \sqrt{\frac{(730-674,6)^2+(700-674,6)^2+(616-674,6)^2+(678-674,6)^2+(650-674,6)^2}{5 - 1}}$$

$$= \sqrt{\frac{55,4^2 + 25,4^2 + (-58,6)^2 + 3,4^2 + (-24,6)^2}{4}}$$

$$= \sqrt{\frac{7764.96}{4}}$$

$$= 44$$

Also beträgt die mittlere quadratische Abweichung für die Zinkbestimmung bei Proband Nr. 2303 :

44 γ Zn pro ml .

Tab. 4 : Übersicht der mittleren quadratischen Abweichung für einige Untersuchungen bei Normo-, Hypozoo-, Oligo-, Azoo- und Aspermien sowie bei Hypokinesis.

Mittlere quadratische Abweichung (in γ Zn / ml)

	Prot.Nr.	Zn
Normospermie	2190	43
	2192	33
	2219	58
	2270	38
	2337	45
Hypozoospermie	2183	48
	2234	43
	2263	36
	2311	50
	2332	48
Oligospermie	2181	41
	2210	40
	2248	41
	2319	49
Aspermie	2279	45
	2282	46
	2333	42
Hypokinesis	2197	37
	2283	42
	2318	36

Aus dieser Aufstellung geht hervor, dass die mittlere quadratische Abweichung 46 γ Zink / ml beträgt. Berücksichtigt man die Tatsache, dass es sich um γ - Werte handelt, so kann man die verwendete Methodik als zuverlässig genug ansehen.

Tab. 5 : Übersicht der bei 20 Patienten durchgeführten Serienbestimmungen zur Ermittlung der Fehlerbreite und Errechnung der mittleren quadratischen Abweichung.

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn
2190	575
	490
	555
	595
	630
	610
	520
	600
	545
	570
Mittelwert:	569

Mittlere quadratische Abweichung: (43 Y Zink)

2192	390
	440
	390
	350
	420
	410
	370
	430
	350
	360
Mittelwert:	391

(33 Y Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn
2219	510
	590
	620
	430
	530
	520
	490
	470
	500
	460
Mittelwert:	512

(58 Y Zink)

Prot.Nr.	
2270	250
	310
	290
	270
	220
	205
	305
	220
	235
	290
Mittelwert:	260

(38 Y Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn
2337	820
	740
	890
	840
	778
	750
	837
	820
	790
	800
Mittelwert :	807

(45 Y Zink)

2183	290
	340
	330
	200
	260
	280
	210
	320
	310
	300
Mittelwert :	284

(48 Y Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn
2234	347
	420
	390
	290
	310
	380
	350
	310
	400
	360
Mittelwert :	356
	(43 γ Zink)

2263	342
	390
	300
	360
	365
	380
	310
	310
	320
	290
Mittelwert :	337
	(36 γ Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn	
2311	325	
	230	
	250	
	405	
	340	
	335	
	300	
	290	
	297	
	270	
Mittelwert:	304	
		(50 Y Zink)

2332	615	
	550	
	540	
	635	
	690	
	675	
	640	
	590	
	605	
	600	
Mittelwert:	614	
		(48 Y Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn
2181	655
	605
	620
	680
	700
	710
	620
	605
	660
	680
Mittelwert:	664

(41 γ Zink)

2210	1100
	1000
	1070
	1140
	1130
	1110
	1080
	1075
	1060
	1090
Mittelwert :	1086

(40 γ Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn
2248	520
	470
	480
	480
	590
	510
	470
	560
	525
	550
Mittelwert:	516

(41 γ Zink)

2319	525
	605
	530
	580
	470
	540
	590
	490
	460
	545
Mittelwert :	534

(49 γ Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn
2279	525
	490
	470
	560
	580
	590
	530
	460
	490
	525
Mittelwert:	522

(45 Y Zink)

2282	310
	400
	350
	360
	240
	280
	300
	310
	290
	290
Mittelwert:	313

(46 Y Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn
2333	650
	610
	610
	590
	580
	710
	680
	650
	670
	610
Mittelwert:	636

(42 Y Zink)

2197	615
	570
	560
	650
	660
	620
	615
	590
	640
	585
Mittelwert:	611

(37 Y Zink)

S e r i e n b e s t i m m u n g e n

Prot.Nr.	Zn	
2283	935	
	905	
	1010	
	910	
	940	
	980	
	890	
	910	
	880	
	890	
Mittelwert:	924	
		(42 Y Zink)

2318	490	
	420	
	470	
	540	
	530	
	505	
	520	
	540	
	495	
	510	
Mittelwert /	502	
		(36 Y Zink)

C. Ergebnisse.

Beschreibung der Ergebnisse und der tabellarischen Übersichten.

Zuerst haben wir unsere Ergebnisse fortlaufend geordnet. Dabei wurde von uns so vorgegangen, dass neben der Protokollnummer des Fertilitäts-Hauptbuches die Anzahl der Spermatozoen pro ml, die Kinetik, der Fruktosegehalt, die klinische Diagnose und schliesslich die gefundenen Zinkwerte aufgeführt wurden.
In weiteren Tabellen wurden die klinischen Diagnosen mit den dazugehörigen Zinkwerten zusammengestellt. Ausserdem wurden die Mittelwerte errechnet.
Wir konnten dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen den zu den einzelnen Diagnosen gehörenden Ergebnissen bezw. deren Mittelwerten feststellen. Ein Zusammenhang zwischen den klinischen Diagnosen und den Zinkwerten im menschlichen Sperma ist nicht herzustellen.

Nach der morphologischen Beurteilung - sowohl markoskopisch als auch mikroskopisch - wurde eine Untersuchung des Zinkgehaltes nach der beschriebenen Versuchsanordnung durchgeführt. Ausserdem wurden die Fruktosewerte bestimmt. Die experimentellen Untersuchungen wurden an 160 Ejakulaten, meistens von Männern kinderloser Ehen, durchgeführt. Übersicht der untersuchten Fälle nach Diagnosen geordnet :

Tab. 6 : Zahl der untersuchten Personen nach klinischen Diagnosen geordnet.

Diagnose	Zahl der Fälle
Normospermie	58
Hypozoospermie	14
Oligospermie	55
Azoo- und Aspermie	23
Hypokinesis	10
Gesamtzahl :	160 Fälle

In den nun folgenden Tabellen sind die Versuchsergebnisse aller Fälle nach fortlaufenden Protokollnummern aufgeführt.

a) Ergebnisse der Zinkbestimmungen bei menschlichen Ejakulaten.

In der folgenden Tabelle erfolgt eine Zusammenfassung der Messergebnisse des Zinkgehaltes in menschlichen Ejakulaten nach Protokollnummern geordnet. Der Zinkgehalt in γ / ml Ejakulat wird der Zahl von Spermatozoen / ml , der Kinetik der Spermatozoen ausgedrückt im Prozentsatz ihrer Beweglichkeit und dem Fruktosegehalt in γ / ml gegenübergestellt.

Erläuterung der verwendeten Bezeichnungen :

I. : Anzahl der Spermatozoen (in Mill.) / ml Ejakulat

II.: Kinetik der Spermatozoen : a - b - c

a....% sehr lebhaft beweglich
b....% mässig beweglich
c....% unbeweglich

III.: Fruktosegehalt in γ /ml Ejakulat

IV. : Diagnose. Morphologische Einordnung der Spermatozoen nach S c h i r r e n .

No = Normospermie	:	über 60 Mill.Sp./ml
Hy = Hypozoospermie	:	40 - 60 Mill.Sp./ml
Ol = Oligospermie	:	unter 40 Mill.Sp./ml
As = Aspermie	:	Fehlen von Spermatozoen
Hk = Hypokinesis	:	über 60 Mill.Sp./ml bei weniger als 50 % Motilität

V . : Zinkgehalt in γ / ml Ejakulat.

Tab. 7 : Zusammenfassung der Meßergebnisse nach Diagnosen geordnet.

Nr.	Prot.Nr.	I.	II.	III.	IV.	V.
1	2180	31,6	20-20-60	1390	Ol	410
2	2181	6,3	10-20-70	3680	Ol	655
3	2182	277,6	70-20-10	1200	No	940
4	2183	39,9	70-20-10	2760	Hy	290
5	2184	3,3	60-20-20	4260	Ol	1100
6	2185	über 300,0	70-20-10	1760	No	525
7	2186	81,6	70-20-10	1840	No	575
8	2187	unter 3,0	50-30-20	3760	Ol	980
9	2188	175,2	70-20-10	3100	Ol	400
10	2189	unter 3,0	2-4 mä.bw.	2300	Ol	860
11	2190	über 300,0	70-20-10	2680	No	575
12	2191	121,2	50-20-30	3960	No	410
13	2192	über 300,0	60-20-20	2120	No	390
14	2193	unter 3,0	60-20-20	3400	Ol	275
15	2194	17,1	70-20-10	3600	Ol	390
16	2195	4,8	70-20-10	2680	Ol	325
17	2196	149,6	70-20-10	1940	No	375
18	2197	160,1	20-30-50	2020	Hk	615
19	2198	-	-	3200	As	1180
20	2199	über 300,0	40-30-30	-	No	940
21	2200	30,0	30-20-50	1480	Ol	760
22	2201	189,0	40-10-50	2120	No	450
23	2202	4,2	20-30-50	1760	Ol	375

-Forts.S.53-

Forts. Tab. 7 :

Nr.	Prot.Nr.	I.	II.	III.	IV.	V.
24	2203	50,5	30-20-50	2680	Hy	615
25	2204	36,0	20-30-50	3960	Ol	220
26	2205	194,0	30-10-60	2580	Hk	330
27	2206	-	-	640	As	926
28	2207	65,6	60-10-30	3200	No	635
29	2208	18,7	45-25-30	3040	Ol	250
30	2209	28,5	60-10-30	1960	Ol	775
31	2210	15,0	50-30-20	1560	Ol	1100
32	2211	-	-	1760	As	500
33	2212	48,0	70-20-10	3540	Hy	370
34	2213	133,0	40-20-40	3680	No	600
35	2214	153,8	50-10-40	1840	No	1075
36	2215	unter 3,0	2-4 mä.bw.	2220	Ol	550
37	2216	unter 3,0	2-4 mä.bw.	2760	Ol	575
38	2217	-	-	3400	As	710
39	2218	-	-	3200	As	825
40	2219	über 300,0	70-20-10	464	No	510
41	2220	7,2	60-10-30	1200	Ol	385
42	2221	16,5	50-20-30	1840	Ol	500
43	2222	48,0	70-20-10	3680	Hy	810
44	2223	-	-	3600	As	450
45	2224	unter 3,0	2-4 mä.bw.	360	Ol	775
46	2225	13,8	50-10-40	2840	Ol	510
47	2226	14,0	20-20-60	5120	Ol	400
48	2227	-	-		As	1190
49	2228	175,0	70-20-10	3400	No	1225
50	2229	31,5	70-20-10	3100	Ol	960

Forts. Tab. 7 :

Nr.	Prot.Nr.	I		II.	III.	IV.	V.
51	2230	über	300,0	70-20-10	2500	No	360
52	2231		217,0	10-30-60	120	Hk	820
53	2232		14,6	2-4 mä.bw.	3200	Ol	155
54	2233		44,4	40-10-50	2400	Hy	1025
55	2234		46,2	20-20-60	3540	Hy	347
56	2235		120,3	70-20-10	1940	No	1025
57	2236		87,2	70-20-10	1840	No	775
58	2237		80,4	70-20-10	1560	No	600
59	2238	über	300,0	70-20-10	1840	No	785
60	2239		33,6	60-10-30	4440	Ol	575
61	2240		143,6	70-20-10	1390	No	630
62	2241		34,8	60-10-30	5240	Ol	900
63	2242		-	-	3880	As	577
64	2243		116,2	20-20-60	544	Hk	700
65	2244		18,6	60-20-20	1560	Ol	545
66	2245		-	-	1650	As	650
67	2246	unter	3,0	60-30-10	5950	Ol	1025
68	2247		130,0	70-20-10	2300	No	310
69	2248		18,0	50-20-30	3680	Ol	520
70	2249		56,0	70-20-10	2120	No	450
71	2250		199,0	50-20-30	3680	No	300
72	2251		46,8	60-20-20	3600	Hy	430
73	2252		278,4	70-20-20	2300	No	875
74	2253	über	300,0	70-20-10	4600	No	670
75	2254		19,8	20-20-60	256	Ol	510

- Forts.Seite 55 -

Forts. Tab. 7 :

Nr.	Prot.Nr.	I.	II.	III.	IV.	V.
76	2255	6,3	10-20-70	1300	Ol	980
77	2256	45,6	-	920	Ol	660
78	2257	32,4	20-20-60	1940	Ol	1010
79	2258	68,8	10-20-70	2300	Hk	470
80	2259	110,3	40-20-40	2940	No	725
81	2260	-	-	3360	As	660
82	2261	115,0	70-20-10	3800	No	350
83	2262	7,2	10-20-70	816	Ol	720
84	2263	57,8	20-20-60	2020	Hy	342
85	2264	48,0	70-20-10	3200	Hy	940
86	2265	über 300,0	70-20-10	4440	No	410
87	2266	25,2	70-20-10	2680	Ol	837
88	2267	über 300,0	50-20-30	3360	No	575
89	2268	9,8	10-20-70	1100	Ol	670
90	2269	13,3	70-20-10	1480	Ol	400
91	2270	62,2	70-20-10	2680	No	250
92	2271	-	-	5120	As	1075
93	2272	-	-	250	As	1040
94	2273	-	-	2120	As	930
95	2274	-	-	4320	As	850
96	2275	16,8	20-20-60	3200	Ol	1100
97	2276	48,0	70-20-10	4600	Hy	360
98	2277	15,6	60-20-20	2760	Ol	425
99	2278	48,3	60-20-20	2940	Hy	510
100	2279	-	-	1760	As	525

-Forts.s.Seite 56 -

Forts. Tab. 7 :

Nr.	Prot.Nr.	I.	II.	III.	IV.	V.
101	2280	-	-	1650	As	325
102	2281	22,8	50-30-20	1390	Ol	520
103	2282	-	-	1000	As	310
104	2283	120,6	20-20-60	1100	Hk	935
105	2284	62,2	70-20-10	1360	No	300
106	2285	81,6	10-20-70	816	No	450
107	2286	255,6	70-20-10	2300	No	360
108	2287	21,4	60-10-30	1840	Ol	155
109	2288	-	-	3040	As	475
110	2289	141,5	70-20-10	2760	No	792
111	2290	6,0	10-20-70	1300	Ol	475
112	2291	37,2	60-20-20	2760	Ol	520
113	2292	62,4	60-20-20	3540	No	585
114	2293	13,0	50-30-20	2300	Ol	1025
115	2294	232,8	70-20-10	4440	No	785
116	2295	102,0	70-20-10	3760	No	640
117	2296	3,3	2-4 mä.bw.	920	Ol	1300
118	2297	über 300,0	70-20-10	4320	No	1010
119	2298	13,0	70-20-10	3360	Ol	810
120	2299	9,6	50-20-30	1300	Ol	625

- Forts.s.Seite 57 -

Forts. Tab. 7 :

Nr.	Prot.Nr.		I.	II.	III.	IV.	V.
121	2300		88,0	40-30-30	1480	No	695
122	2301		3,0	2-4 mä.bw.	544	Ol	475
123	2302		17,0	70-20-10	4200	Ol	475
124	2303		14,0	2-4 mä.bw.	2350	Ol	700
125	2304		12,2	60-20-20	1390	Ol	900
126	2305		20,2	50-20-30	1300	Ol	520
127	2306		76,0	60-20-20	2400	No	340
128	2307		82,0	60-20-20	2760	No	400
129	2308		64,0	70-20-10	1940	No	360
130	2309		123,3	70-20-10	3760	No	690
131	2310		204,0	70-20-10	4440	No	575
132	2311		42,0	50-20-30	1390	Hy	325
133	2312		48,0	2-4 mä.bw.	3200	Hk	758
134	2313		-	-	1760	As	470
135	2314	über	300,0	70-20-10	5120	No	980
136	2315		57,6	30-30-40	1650	Hk	392
137	2316		7,8	50-20-30	1200	Ol	690
138	2317		-	-	1760	As	700
139	2318		264,0	10-20-70	816	Hk	490
140	2319	unter	3,0	60-30-10	1940	Ol	525

- Forts.S.Seite 58 -

Forts. Tab. 7 :

Nr.	Prot.Nr.	I.	II.	III.	IV.	V.
141	2320	85,6	70-20-10	2400	No	280
142	2321	73,6	60-20-20	2020	No	375
143	2322	110,0	20-30-50	1760	No	700
144	2323	198,0	60-20-20	2760	No	142
145	2324	194,0	70-20-10	3540	No	460
146	2325	-	-	1940	As	615
147	2326	21,6	30-30-40	1200	Ol	450
148	2327	282,6	60-20-20	3o4o	No	420
149	2328	-	-	3680	As	980
150	2329	65,2	50-10-40	2500	No	635
151	2330	60,8	20-20-60	360	No	550
152	2331	83,4	60-30-10	1760	No	600
153	2332	43,2	60-20-20	2020	Hy	615
154	2333	-	-	544	As	650
155	2334	140,7	60-20-20	4260	No	125
156	2335	110,0	10-30-60	1560	Hk	250
157	2336	48,0	60-10-30	2220	Hy	450
158	2337	192,0	60-20-20	4200	No	820
159	2338	124,8	50-20-30	2680	No	210
160	2339	68,0	70-20-10	3100	No	615

In den folgenden Tabellen erfolgt eine Zusammenfassung der Meßergebnisse des Zinkgehaltes menschlicher Ejakulate nach Diagnosen geordnet.

Tab. 8 : Zusammenfassung des Zinkgehaltes menschlicher Ejakulate bei Normospermie . 58 Fälle .

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
1	2182	Normospermie	940
2	2185	"	525
3	2186	"	575
4	2190	"	575
5	2191	"	410
6	2192	"	390
7	2196	"	375
8	2199	"	940
9	2201	"	450
10	2207	"	635
11	2213	"	600
12	2214	"	1075
13	2219	"	510
14	2228	"	1225
15	2230	"	360
16	2235	"	1025
17	2236	"	775
18	2237	"	600
19	2238	"	785
20	2240	"	630
21	2249	"	450

-Forts.Seite 60-

Forts.Tab. 8 :

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
22	2249	Normospermie	450
23	2250	"	300
24	2252	"	875
25	2253	"	670
26	2259	"	725
27	2261	"	350
28	2265	"	410
29	2267	"	575
30	2270	"	250
31	2284	"	300
32	2285	"	450
33	2286	"	360
34	2289	"	792
35	2292	"	585
36	2294	"	785
37	2295	"	640
38	2297	"	1010
39	2300	"	695
40	2306	"	340
41	2307	"	400
42	2308	"	360
43	2309	"	690
44	2310	"	575
45	2314	"	980

- Forts.Seite 61 -

Forts. Tab. 8 :

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
46	2320	Normospermie	280
47	2321	"	375
48	2322	"	700
49	2323	"	142
50	2324	"	460
51	2327	"	420
52	2329	"	635
53	2330	"	550
54	2331	"	600
55	2334	"	125
56	2337	"	820
57	2338	"	210
58	2339	"	615
		Summe:	33209

Mittelwert : 572,56 γ

Tab. 9 : Zusammenfassung der Meßergebnisse des Zinkgehaltes menschlicher Ejakulate bei Hypozoospermie. 14 Fälle .

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
1	2183	Hypozoospermie	290
2	2203	"	615
3	2212	"	370
4	2222	"	810
5	2233	"	1025
6	2234	"	347
7	2251	"	430
8	2263	"	342
9	2264	"	940
10	2276	"	360
11	2278	"	510
12	2311	"	325
13	2332	"	615
14	2336	"	450
		Summe:	7429

Mittelwert : 530,642 γ

Tab. 10 :
Zusammenfassung des Zinkgehaltes menschlicher Ejakulate bei Oligospermie. 55 Fälle .

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
1	2180	Oligospermie	410
2	2181	"	655
3	2184	"	1100
4	2187	"	980
5	2188	"	400
6	2189	"	860
7	2193	"	275
8	2194	"	390
9	2195	"	325
10	2200	"	760
11	2202	"	375
12	2204	"	220
13	2208	"	250
14	2209	"	775
15	2210	"	1100
16	2215	"	550
17	2216	"	575
18	2220	"	385
19	2221	"	500
20	2224	"	775

-Forts.Seite 64 -

Forts. Tab. 10 :

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
21	2225	Oligospermie	510
22	2226	"	400
23	2229	"	960
24	2232	"	155
25	2239	"	575
26	2241	"	900
27	2244	"	545
28	2246	"	1025
29	2248	"	[illegible]0
30	2254	"	510
31	2255	"	980
32	2256	"	660
33	2257	"	1010
34	2262	"	720
35	2266	"	837
36	2268	"	670
37	2269	"	400
38	2275	"	1100
39	2277	"	425
40	2281	"	520

- Forts.Seite 65 -

Forts.Tab. 10 :

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
41	2287	Oligospermie	155
42	2290	"	475
43	2291	"	520
44	2293	"	1025
45	2296	"	1300
46	2298	"	810
47	2299	"	625
48	2301	"	475
49	2302	"	475
50	2303	"	700
51	2304	"	900
52	2305	"	520
53	2316	"	690
54	2319	"	525
55	2326	"	450
		Summe:	34727

Mittelwert : 631,4 γ

Tab. 11 : Zusammenfassung der Meßergebnisse des Zinkgehaltes menschlicher Ejakulate bei Aspermie. 23 Fälle .

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
1	2198	Aspermie	1180
2	2206	"	926
3	2211	"	500
4	2217	"	710
5	2218	"	825
6	2223	"	450
7	2227	"	1190
8	2242	"	577
9	2245	"	650
10	2260	"	660
11	2271	"	1075
12	2272	"	1040
13	2273	"	930
14	2274	"	850
15	2279	"	525
16	2280	"	325
17	2282	"	310
18	2288	"	475
19	2313	"	470
20	2317	"	700
21	2325	"	615
22	2328	"	980
23	2333	"	650
		Summe:	16613

Mittelwert : 722,306 γ

Tab. 12 : Zusammenfassung der Meßergebnisse des Zinkgehaltes menschlicher Ejakulate bei Hypokinesis. 10 Fälle .

Nr.	Prot.Nr.	Diagnose	Zn-Gehalt γ/ml
1	2197	Hypokinesis	615
2	2205	"	330
3	2231	"	820
4	2243	"	700
5	2258	"	470
6	2283	"	935
7	2312	"	758
8	2315	"	392
9	2318	"	490
10	2335	"	250
		Summe:	5760

Mittelwert : 576,0 γ

b) Doppelbestimmungen .

Bei einigen Patienten machten wir Doppelb stimmungen des Zinkgehaltes im Sperma. Der Abstand zur ersten Untersuchung betrug in allen Fällen mehr als 3 Wochen. Eine Hormonbehandlung war bei keinem der Probanden durchgeführt worden.

In Tabelle 13 werden die Ergebnisse von Doppelbestimmungen des Zinkgehaltes bei 13 Probanden aufgeführt. Zwischen den beiden Untersuchungen lag jeweils ein Zeitraum von mehr als 5 Wochen. Der Zinkwert der ersten Untersuchung wird dem der zweiten gegenübergestellt.

- Tab. 13 siehe Seite 69 -

Tab. 13 : Übersicht des Zinkgehaltes im Spermaplasma (γ / ml) bei wiederholter Bestimmung.

Prot.Nr.	1.Untersuchung	2.Untersuchung
2211 (2279)	500	525
2218 (2260)	490	400
2220 (2304)	385	900
2224 (2319)	775	525
2226 (2318)	400	490
2242 (2274)	577	850
2244 (2291)	545	520
2276 (2308)	360	360
2277 (2296)	425	1300
2298 (2312)	810	758
2307 (2336)	400	450
2313 (2325)	470	615
2315 (2337)	392	820

c) Zinkbestimmungen im Bullensperma .

Dank der freundlichen Unterstützung von Herrn Prof. Dr.Ließ und Herrn Dr. Krause vom Institut für Fortpflanzung und Haustierbesamung der Tierärztlichen Hochschule in Hannover war es uns möglich, Bullenejakulat auf den Zinkgehalt hin zu untersuchen. Es lag uns vor allem daran, eine Vergleichszahl zu den Angaben von D y r e n d a h l zu bekommen.
Das Ejakulat wurde mit der künstlichen Vagina gewonnen, in die zum Auffangen des Ejakulates ein nach dem oben angegebenen Verfahren gereinigtes Glasgefäss eingespannt wurde. Es wurden zwei Ejakulate vom elben Bullen untersucht, und zwar waren diese im Abstand von etwa 10 Minuten gewonnen worden.
Wir fanden so niedrige Zinkwerte, dass wir d das Bullensperma garnicht erst 1 : 100 verdünnen mussten.

Unsere Werte waren:

für den "Sprung 1"	6,55 Y Zink / ml	Bullenejakulat
" " "Sprung 2"	2,50 Y Zink / ml	" .

Damit konnten wir die Angaben von D y r e n d a h l , der bei 70 Spermaproben von Bullen einen Mittelwert von 28,41 $\pm$ 0,99 Y Zink / ml fand, nicht ganz bestätigen. Selbstverständlich aber lässt sich ein Vergleich nur bei einem grösseren Materialgut ziehen.

D. Diskussion.

Es ist das Ziel dieser Arbeit, experimentell begründete Aussagen über den Gehalt von Zink im menschlichen Sperma zu machen.

Die der Arbeit vorangestellte Literaturübersicht zeigt, dass sich eine Vielzahl von Autoren mit dem Problem des Vorkommens von Zink im menschlichen, tierischen und pflanzlichen Körper beschäftigt haben, dass aber mangelhafte Methoden oder verschiedenartige Einheiten einen Vergleich der gefundenen Werte schwierig, wenn nicht unmöglich, machen. Ein Vergleich ist lediglich möglich mit den Werten von V a s t e r l i n g und D y r e n d a h l , die beide die auch von uns benutzte Dithizonmethode anwandten. Beide Autoren bestimmten Zink - ebenso wie wir - im frischen Sperma, während die Bestimmungen anderer Autoren meistens auf einer Trockengewichtsbasis beruhten. Während D y r e n d a h l den Zingehalt von nur 3 menschlichen Ejakulaten untersuchte, erstrecken sich die Untersuchungen von V a s t e r l i n g auf über 108 Beispiele.

In Tab. 14 werden die Zinkwerte von VASTERLING und DYRENDAHL den eigenen Werten gegenübergestellt :

Tab.14: Der Zinkgehalt im menschlichen Sperma nach den Literaturangaben

	Zinkgehalt in γ/ml Ejakulat	Zahl der Untersuchg.
DYRENDAHL	575 - 2020	3
VASTERLING	220 - 768	108
Autor	125 - 1300	160

Zur Gegenüberstellung der von V a s t e r l i n g gefundenen Werte zu denen der eigenen Untersuchung sei bemerkt, daß Vasterling Werte ermittelte, die zwischen 220 und 768 Y Zink/ml schwanken, während sich die eigenen Werte zwischen 125 Y Zink/ml Sperma und 1300 Y Zink /ml Sperma bewegen. Es liegt nahe, den Grund für die grössere Streuung der von uns ermittelten Werte in dem zahlenmässig umfangreicheren Patientenmaterial zu sehen. Prinzipiell decken sich jedoch unsere Angaben mit denen von VASTERLING und DYRENDAHL, obwohl uns der Extremwert von DYRENDAHL mit 2020 Y Zink pro ml Ejakulat etwas zu hoch erscheint.
Es konnte von uns keine positive Korrelation zwischen Spermatozoenzahl und Zinkgehalt festgestellt werden.

Der Mittelwert der von uns gefundenen Zinkwerte betrug 607 Y/ml. Ein Vergleich der gefundenen Zahlen nach den klinischen Diagnosen ergab keinen Zusammenhang. Es erscheint erwähnenswert, dass gerade der Mittelwert des Zinkgehaltes bei Azoo- und Aspermie mit 722 Y Zink/ml der höchste war. Bei 13 Patienten wurden im Abstand von mehr als 5 Wochen Doppelbestimmungen durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass der Zinkspiegel im menschlichen Sperma grösseren Schwankungen unterworfen ist. Von Interesse wären sicher weitere Untersuchungen, um die Frage zu klären, inwieweit der Zinkgehalt im Sperma von exogenen Einflüssen, wie von der Nahrungsaufnahme oder von Hormonen abhängig ist.

Mit den vorgelegten Untersuchungsergebnissen sollte ein Beitrag zur Biochemie des menschlichen Spermas geleistet werden. Eine Deutung der Befunde erscheint erst bei Vorliegen eines grösseren Untersuchungsmaterials möglich.

E. Zusammenfassung .

In einer experimentellen Arbeit wird über den Gehalt des menschlichen Spermas an Zink berichtet.
Nach einer einleitenden Literaturübersicht über die Bedeutung des Zinks im menschlichen und tierischen Organismus wird eingehend die Methodik der Zinkbestimmung mit Dithizon beschrieben, und es werden die Fehlerquellen behandelt.
Es folgt eine Beschreibung der eigenen Untersuchungsergebnisse an 160 Patienten. Die von uns gefundenen Werte schwanken von 125 bis 1300 Y Zink /ml Ejakulat.
Dabei konnte festgestellt werden, dass der durchschnittliche Zinkgehalt im menschlichen Sperma folgende Werte aufweist :

Mittelwert aller gefundenen Werte:	607	Y/ml
" bei Normospermie :	573	"
" bei Hypozoospermie :	531	"
" bei Oligospermie :	631	"
" bei Azoo-u.Aspermie :	722	"
" bei Hypokinesis :	576	"

Ein Vergleich der gefundenen Werte nach den klinischen Diagnosen ergab keinen Zusammenhang.

Zur exakten Klärung des Genauigkeitsfaktors bei der Methodik wurden bei 20 Patienten jeweils 10 Bestimmungen des Zinkgehaltes durchgeführt und anschliessend die mittlere quadratische Abweichung berechnet.
Es ergab sich dabei eine mittlere quadratische Abweichung von ± 46 Y Zn / ml .

F. Literaturverzeichnis

Albert,A.: "Quantitative studies of the avidity of naturally occuring substances for trace metalls" Biochem.J. 50, 1952, 690

Bertrand,G. und R.Vladesco : "Intervention probable du zinc dans les phénomènes de fecondation chez les animaux vertébrés." Compt.Rend.Acad.Sci.173, 1921, 176

Brinkmann,R.,R.Margaria, N.U.Meldrum und F.J.W.Roughton: "The CO_2 catalyst present in blood." J.Physiol.75. 1932. 3

Cunningham,L.W.,R.L.Fischer und C.S.Vestling: "Binding of zinc and cobalt by insulin" J.Am.Chem.Soc.77. 1955. 5703

Dyrendahl,I.:"Undersökningar rörande förekomsten av zink i tjursperma" Nord.Vet.Med.6. 1954. 873

Edsall,J.T., G.Felsenfeld, D.S.Goodman u.F.R.N.Gurd : "Association of imidazole with ions of zinc and cupric copper" J.Am.Chem.Soc.76. 1954. 3054

Eggleton, W.G.E.: " Zinc and copper contents of organs and tissues of Chinese subjects" Biochem.J. 34. 1940. 991

Eisenbrand, J. und M.Sienz : "Über den Zinkgehalt von menschlichen Pankreasdrüsen"
Biochem.Ztschr.268. 1941. 1

Elcoate,P.V.: "The effect of zinc deficiency on the male genital system"
J.Physiol.129. 1955. 53 P

Evans,J.S.,L.R.Hines, J.C.Ceithaml und F.C.Koch:
"Comparative study on the augmentation of the action of gonadotropins from various sources in the rat, mouse and chick"
Endocrinology 26.1940.1012

Fevold,H.L.,F.L.Hisaw und R.Grey:
"Augmentation of the gonad stimulating action of pituitary extracts by inorganic substances, particularly copper salts"
Am.J.Physiol. 117. 1936. 68

Fischer,M.I.,A.O.Tikkala und C.A.Mawson:
"Zinc, carbonic anhydrase and phosphatase in the prostate of the rat."
Can.J.Biochem.and Phys.33. 1955. 181

Glick,D.: "Dithizon - Methoden"
Methods of Biochem.Analyses 3.1956.340

Gottron,H.A. und W.Schönfeld : Handbuch der Dermatologie und Venerologie III/2 1959, 1097

Gunn,S.A., T.C.Gould, S.S.Ginori und J.G.Morse :
"Selective uptake of Zn^{65} by the dorsolateral prostate of the rat"
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.88. 1955. 556

Gunn,S.A. und T.C.Gould : "Role of zinc in fertility and fecundity in the rat"
Am.J.Physiol.193. 1958. 505

Hoare,R.,G.E.Delory und D.W.Penner: "Zinc and acid phosphatase in the human prostate."
Cancer 9. 1956. 721

Kar,A.B.,W.F.R.Pover und B.J.Poscott : "Influence of sex hormones on uptake of Zn^{65} by dorsolateral prostate of rat."
Acta Endocrinol.22. 1956. 390

Keilin,D.und T.Mann : "Carbonic anhydrase. Purification and nature of the enzyme."
Biochem.J. 34. 1940. 1163

Kimmig,J.und C.Schirren: " Untersuchungen der Sekrete der Prostata, Bläschendrüsen, Nebenhoden sowie die Bestimmung von Steroidhormonen und Gonadotropinen im Urin".
Im Handbuch für Urologie, Springer-Verlag, 1960 , Berlin und München

Koga,A.: "Repartition du zinc dans les organes des animaux"
Keijo J.Med. 5. 1935. 97

Leathem,J.H.: "Gonadotropic activity of equine gonadotropin in combination with zinc"
Am.J.Physiol.145, 1945. 128

Lechartier,G. und F. Bellamy : "Sur la presence du zinc dans les dorps des animaux et dans les végétaux".
Compt.Rend.Acad.Sci.84,1877. 687

Leiner,M. und G.Leiner : "Das Ferment Kohlensäureanhydratase im Tierkörper"
Biol.Zentr.60. 1940. 449

Leiner, M. und G. Leiner : "Der Gehalt an Zink und Kohlensäureanhydratase in den Augen, in anderen Organen und im Blut von Wirbeltieren.
Naturwissenschaften 29. 1941. 763

Lutz, R.E.: "The normal occurance of zinc in biologic materials"
J.Ind.Hyg. 8, 1926. 177

Mann, T.: "Studies on the properties of semen"
Biochem.J. 39. 1946. 451

Mann, T.: "The Biochemistry of Semen"
Methuen a.Co., LTD London 1954

Mc Cance,R.A. u.E.W.Widdowson: "Absorption and excretion of zinc"
Biochem.J. 36, 1942. 392

Maske,H.: "Beobachtungen über das Zink in den Langerhansschen Inseln des Pankreas und seine Beziehungen zur Inselfunktion"
Ztschr.Naturforsch. 8b, 1956. 96

Mathies,J.E.: "Preparation and properties of highly purified alkaline phosphatase from swine kidneys."
J.Biol.Chem.233. 1958. 1121

Mawson,C.A. u.M.J.Fischer:
"Zinc in genital organs of the rat."
Nature 167. 1951. 859

Mawson,C.A. u.M.J.Fischer : "Zinc in human prostate"
Can.J.Med.Sci. 30. 1952. 485

Mawson,C.A. u.M.J.Fischer: "Zinc and carbonic anhydrase in human semen"
Biochem.J. 55. 1953. 696

Meldrum,N.V. und F.J.W. Roughton :
"The CO_2 catalyst present in blood."
J.Physiol.75. 1932. 4 p

Nozaki, Y., F.R.N.Gurd und J.T.Edsall: "Association of 4-methylimidazole with ions of cupric copper and zinc."
J.Am.Chem.Soc. 79. 1957. 2123

Perkins,D.J.: "Effect of amino acid structure on stabilities of the complexes formed with metals of group II"
Biochem.J. 55. 1953. 649

Prout,G.R., O.Daniel und W.F.Whitmore :
"Occurence of intravenously injected radioactive zinc in prostate and prostatic fluid of dogs."
J.Urol.78. 1957. 471

Pryde,J.: "The distribution of fructose in fractu-
rated specimens of human semen."
Biochem.J. 47. 1950. XV.

Raoult,F. u.H. Breton : "Sur la presence ordinaire du
cuivre et du zinc dans le corps de l'
homme".
Compt.rend.Acad.Sci. 85. 1877. 40

Raulin,J.: "Études cliniques sur la végétation."
Ann.Sci.Nat.Botan.et Biol.Vegetale 11.1869.
93

Schirren,C.: "Klinische und experimentelle Untersuchun-
gen zur Diagnostik der Fertilitätsstörun-
gen des Mannes und ihrer Therapie mit
Hormonen."
Habilitationsschrift Hamburg 1960.

Schwaibold,G.,B.Bleyer und G.Nagel: "Die Bestimmung kleiner
Mengen Kupfer, Blei und Zink mit Dithizon,
mit besonderer Rücksicht auf ihre Bestimmung
in biochemischen Materialien I."
Biochem.Ztschr.297. 1938. 324

Schwaibold,G. u.A.Lesmueller :" Die Bestimmung kleiner
Mengen Kupfer, Blei und Zink mit Dithizon,
mit besonderer Rücksicht auf ihre Bestim-
mung in biochemischen Materialien. II. Die
Veraschung.
Biochem.Ztschr. 300. 1939. 331

Tauber,F.W. und A.C.Krause : "Role of iron,copper,zinc and manganese in metabolism of ocular tissues with special reference to the lens."
Am.J.Ophthalmol. 26. 1943. 26o

Vallee,B.L. und J.G.Gibson : "Zinc content of normal whole blood, plasma, leukocytes and erythrocytes"
J.Biol.Chem. 176. 1948. 445

Vallee, B.L. und M.D.Altschule : "Zinc in the mammalian organism with particular reference to carbonic anhydrase"
Physiol.Rev.29. 1949

Vallee, B.L., F.L.Hoch und W.L.Hughes : "Soluble zinc-containing protein extracted from human leukocytes"
Arch.Biochem. et Biophys.. 48.1954. 347

Vallee,B.L., S.J.Adelstein und J.A.Olson:
"Glutamic dehydrogenase of beef liver, a zinc metalloenzyme."
J.Am.Chem.Soc.77. 1955. 5196

Vallee,B.L. und F.L.Hoch : "Yeast alcohol dehydrogenase, a zinc metalloenzyme."
J.Am.Chem.Soc.77. 1955. 821

Vallee,B.L. u.H.Neurath: "Carboxypeptidase, a zinc metalloenzyme."
J.Biol.Chem. 217, 1955, 253

Vallee,B.L. und W.E.C.Wacker: "Zinc, a component of rabbit muscle lactic dehydrogenase."
J.Am.Chem.Soc.78.1956.1771

Vallee,B.L. und F.L.Hoch: "Zinc in liver alcohol dehydrogenase".
J.Biol.Chem.225. 1957. 185

Vallee,B.L.: "Biochemistry, Physiology and Pathology of Zinc."
Physiol.Rev. 39. 1959. 443

Vasterling, H.W.: "Der Zinkgehalt menschlicher Ejakulate"
XXV. Tagung der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. Hamburg 18.-22.5.1960

Vikbladh,I. : "Studies on zinc in blood"
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 2. 1950. 143

Vikbladh,I. : "Studies on zinc in blood. II."
Scand.J.Clin.Lab.Invest. Suppl.2. 1951

Weitzel,G.: "Chemie und Physiologie biogener Zinkverbindungen".
Angew.Chemie 68. 1956. 566

Weitzel,G., A.M. Fretzdorff und A.Eberhagen:
"Zink in den Augen von Säugetieren."
Ztschr.Physiol.Chem.292. 1953. 222

Weitzel,G., F.J.Strecker, U.Roester, A.M.Fretzdorff und E.Buddecke :
"Zink und Insulin im Pankreas von Knochenfischen."
Ztschr.Physiol.Chem. 295. 1953. 83

Weitzel,G., A.M. Fretzdorff: "Zn-Komplexe von Histidin und Histidinamid." Ztschr.Physiol.Chem. 307. 1957. 14

Wolff,H.: "Der normale Zinkgehalt in Blut,Serum und Erythrozyten." Dtsch.Arch.Klin.Med. 197. 1950. 263

Wolff,H.: "Untersuchungen zur Pathophysiologie des Zinkstoffwechsels." Klin.Wschr. 34. 1956. 409

Wolff,H.: "Untersuchungen über die Bestimmung von Zink mit Dithizon in biologischen Präparaten." Biochem.Ztschr. 325. 1954. 267

Herrn Professor K i m m i g bin ich für die Überlassung des Themas und den zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz zu besonderem Dank verpflichtet.

Frau Dr. W e h r m a n danke ich für die praktische Einführung.

Herrn Privatdozent Dr. S c h i r r e n möchte ich für seine Unterstützung in allen klinischen Fragen hiermit danken.

Lebenslauf

Am 25.August 1935 wurde ich, Rainer, Detlef, Dieter, als Sohn des Bankdirektors Georg B e l t e r m a n und seiner Ehefrau Ingeborg, geb.Sperber, in Berlin geboren.

1941 - 1945 besuchte ich die Volksschule in Hannover und wurde anschliessend in die erste Klasse der Oberstufe eingestuft. Ich besuchte die Bismarckschule, Realgymnasium für Jungen in Hannover und bestand am 22.Februar 1954 die Reifeprüfung.

Am 29. April 1954 wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Universität in München immatrikuliert. Nach 3 Semestern setzte ich mein Studium an der Universität in Göttingen fort und bestand hier das Physikum am 27.Februar 1957.

Am 29.April 1954 schrieb ich mich an der Medizinischen Fakultät in Hamburg ein und bestand hier am 28.Juni 1960 das medizinische Staatsexamen.

Seit dem 1.November 1960 bin ich als Pflichtassistent an der Universitäts-Hautklinik in Hamburg-Eppendorf angestellt.

Druck: Photo-Copie GmbH Hamburg 1